



Diplotaenia turcica Bitkisinde Glutasyon Redüktaz ve Glutasyon S-transferaz Enzim Aktiviteleri ile Protein Karbonil Düzeyinin Belirlenmesi

Determination of Glutathione Reductase and Glutathione S-transferase Enzyme Activities and Protein Carbonyl Level in Diplotaenia turcica Plant

Derya ÇAY DEMİR¹ , İbrahim Hakkı YÖRÜK² 

Öz

Bu çalışmada kullanılan *Diplotaenia turcica* bitkisi Doğu Anadolu Bölgesi'nin doğu ve güney doğu lokasyonunda endemik bir tür olup Hakkari yöresinde toplanmıştır. Endemik bir tür olması sebebiyle bitki ile yeterli sayıda çalışma bulunmamakla birlikte sınırlı sayıdaki çalışmalar bitkinin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini öne çıkarmıştır. Yöre halkı tarafından genellikle peynir, çorba gibi besinlerin yapımında kullanılmasının yanı sıra tıbbi amaçla da kullanılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı *Diplotaenia turcica* bitkisinin oksidatif stres düzeyini ve bazı antioksidan aktivitelerini belirlemek ve literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırmaktır. Bu bağlamda Hakkari yöresinden toplanan *Diplotaenia turcica* bitkisinin glutasyon redüktaz ve glutasyon s-transferaz enzim aktiviteleri ile protein karbonil düzeyi belirlenerek literatürde yer alan diğer verilerle karşılaştırıldı. Sonuç olarak, diğer bitkilerle kıyaslandığında *Diplotaenia turcica* bitkisinin güçlü bir antioksidan içeriğe sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: *Diplotaenia turcica*, Glutasyon Redüktaz, Glutasyon S-transferaz, Protein Karbonil

Abstract

The *Diplotaenia turcica* plant used in this study is an endemic species that grows in Hakkari region of Eastern Anatolia. Therefore, not enough studies have been conducted on the plant. The plant, which is also used for medicinal purposes in the region, is used locally in foods such as cheese and soup. In limited studies, the antioxidant and antimicrobial properties of the plant have been highlighted.

The aim of this study is to determine the oxidative stress level and some antioxidant activities of *Diplotaenia turcica* plant and to compare it with other studies in the literature. In this context, oxidative stress level (PKD) and some antioxidant enzyme activities (GR and GST) of *Diplotaenia turcica* plant collected from Hakkari region were determined. The obtained data were compared with other data in the literature. As a result, it can be said that the *Diplotaenia turcica* plant has a rich content of antioxidants compared to other plants.

Keywords: *Diplotaenia turcica*, Glutathione Reductase, Glutathione S-transferase, Protein Carbonyl

8. Uluslararası Hipokrat Tıp Ve Sağlık Bilimleri Kongresi'nde online olarak sunulmuştur (4-5 Mart 2022)

¹ Derya ÇAY DEMİR, Biyokimya, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, imgesl_yasam@hotmail.com, ORCID No: 0000-0001-7271-9581

² Prof. Dr. İbrahim Hakkı YÖRÜK, Biyokimya, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, ibrahimyoruk@yyu.edu.tr, ORCID No: 0000-0002-0525-0346

İletişim/Corresponding Author:

Derya ÇAY DEMİR

Geliş Tarihi/Received : 10.08.2022

Kabul Tarihi/Accepted: 19.12.2022

E-posta/E-mail:

imgesel_yasam@hotmail.com

Yayın Tarihi/Published: 31.12.2022

GİRİŞ

Temel kaynağı moleküler oksijen olan serbest radikaller, atomik ya da moleküler yapıda olup çiftlenmemiş tek elektrona sahiptir. Çiftlenmemiş tek elektrona sahip bu moleküllere “oksidan moleküller” veya “reaktif oksijen türleri” (ROS) denir. Serbest radikaller, reaktif moleküller olup oksidatif strese neden olan maddelerdir (1, 2). ROS; hidrojen peroksid, süperoksid, peroksinitrit, hidroksil radikali gibi moleküller olup, inflamatuvar hastalıklar, diyabet, sigara, obezite, hiperkolestrolemi gibi çeşitli hastalıkların yanı sıra hipoksi/reoksijenizasyon, hipoksi/reperfüzyon ve ağır metallerle maruziyet gibi nedenlerle de oluşur (3). Organizmada gelişen reaktif oksijen molekülleri ile antioksidan dengenin ROS’lar lehine bozulması sonucu oksidatif stres gelişir. Oksidatif stres, çeşitli yollarla biyomoleküllere (lipitlere, proteinlere, enzimlere, karbonhidratlara ve DNA) hasar vermektedir (4). Ayrıca DNA moleküllerine, enzimlere ve proteinlere bağlanması sonucunda ROS, proteinlerin parçalanmasına ve hücrenin zarar görmesine neden olur (5). Oksidatif stresin oluşturduğu bu hasarlar sonucunda tümör gelişimi ve ilerlemesini etkileyerek kanser oluşumuna yol açması, parkinson, alzheimer, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gibi pek çok hastalığın geliştiği yapılan çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir (5, 6). Canlı metabolizmada serbest radikallerin içeriğini azaltan ya da başka moleküllere dönüşmesini sağlayan dolayısıyla oksidatif hasara karşı savunma sağlayan antioksidan savunma mekanizmaları gelişmiştir (7).

ROS’lar antioksidan savunma sistemi ile elimine edilir. Antioksidan savunma sistemi; endojen ve eksojen olarak ikiye ayrılır. Endojen antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik şeklinde sınıflandırılır. Enzimatik antioksidanlar katalaz (CAT), süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR), glutatyonS-Transferaz (GST)

ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri olarak sıralanabilir. Ayrıca bu ana enzimlere ek olarak peroksiredoksinler, tioredoksinler, hem oksijenaz-1, ve glutaredoksinler gibi redoks proteinleri de pulmoner antioksidan savunmasına enzimatik olarak dahil edilebilir. Nonenzimatik antioksidanlar ise başta glutatyon olmak üzere, selenyum, melatonin, α -lipoik asit, koenzim Q 10, albümin, transferrin, ürik asit, bilirubin ve seruloplazmin olarak sıralanabilir. Eksojen antioksidanlar; vitamin olanlar ve ilaç olarak kullanılanlar şeklinde gruplandırılabilir. Vitamin olan antioksidanlar; vitamin A (β -karoten), vitamin E (α -Tokoferol), vitamin C (Askorbik asit) ve vitamin B9 (Folik asit) şeklinde sınıflandırılır. İlaç olarak kullanılan antioksidanlar ise NADPH oksidaz inhibitörleri olan kalsiyum kanal blokerleri, adenozin, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar ve lokal anestezikler; ksantin oksidaz inhibitörleri olan pterin aldehit, allopürinol, tungsten ve oksipürinol; vitamin E analogu olan Trolox-C; rekombinant süperoksid dismutaz; nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar olan albümin ve mannitol; GPx aktivitesini artıran asetilsistein ve ebselen; sitokinlerden IL-1 ile TNF; demir redoks döngüsü inhibitörü olan desferroksamin; demir şelatörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri ve barbitüratlar olarak gruplandırılabilir (8, 9).

Protein karbonil grupları (PKD) proteinlerin amino asit rezidülerinin (lizin, arginin, threonin ve prolin) doğrudan oksidasyonu ile ya da lipitler ile karbonhidratların birincil oksidasyon ürünleri ve ikincil reaksiyonları sonucu oluşmaktadır (10, 11). Yapılan pek çok çalışmada gösterildiği gibi proteinler, reaktif oksijenlerin ilk ve ana hedefi olduğu için yapılarında ve fonksiyonlarında önemli değişiklikler gerçekleşir ve protein karbonil oluşumuna neden olur (12, 13). Protein karbonillerin seviyelerindeki artışın birçok

hastalığın belirtisi olabileceği yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur (14). Oksidatif stresin kararlı belirteçlerinden olan protein karboniller, dolaşımında uzun süre kalması dolayısıyla, yaygın olarak kullanılırlar (15).

Glutasyon redüktaz (GR) enzimi (EC 1.6.4.2) GSH/GSSG oranını koruyarak serbest radikaller ve oksijen radikallerini etkisiz duruma getirmesinin yanında, protein ve DNA sentezi gibi birçok hayati hücrel fonksiyonu düzenler (16). GR, iki altünitten oluşan bir dimer olup, flavin adenin dinükleotid (FAD) içeren flavoprotein bir enzimdir ve okside glutasyonu redükte duruma getirmekten sorumludur. Bu iki altünit ise üç tane yapısal alandan oluşur. Bunlar: NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve ara yüz alanıdır (17). GR, NADPH'nin bir elektronunu okside glutasyonun disülfid bağlarına aktararak yeniden GSH'ye dönüştürür (18). Bu anlamda en önemli kaynağı pentoz fosfat yolu (heksoz monofosfat) olan ve antioksidan savunmada oldukça önemli olan GR, NADPH serbest radikal zararını önlemek için zorunlu bir enzimdir (9).

Glutasyon s-transferaz (GST) enzimi (E.C.2.5.1.18), ksenobiyotik metabolizmanın faz II enzimlerinin üretiminden sorumlu olan bir aileye aittir. Bu proteinler, karsinojenler de dahil olmak üzere endojen ve eksojen maddelerin vücuttan uzaklaştırılmasına aracılık eden elektrofilik bileşenlerle glutasyonun bağlanmasını katalize eder (19). GST'ler tarafından katalizlenen tepkimelerin ilk basamağında, suda çözünür son ürün olan merkapturik asit oluşumu katalizlenir ve homeostasis korunur. Bu ilk basamakta endojen ve eksojen hidrofobik elektrofillerin glutasyona (GSH) bağlanması sağlanır. Dolayısıyla GST'nin çalışabilmesi için GSH zorunlu bir faktör olduğu için GSH'a kosubstrat da denilmektedir (20). GST'nin önemli işlevlerinden biri GSH'ın tiyol (-SH) grubuna bağlanarak, ksenobiyotiklerde

bulunan reaktif elektrofilik bölgelerin detoksifiye edildiği reaksiyonları katalizlemek, diğer önemli işlevleri ise nonsubstrat ligandları (safra tuzu, bilirubin, yağ asiti vb.) GSH ile bağlamak ve prostoglandin izomerizasyonu sağlamaktır (19). GST enzimleri, sigara dumanı, ızgara et ve dizel egzozunun bileşenleri olan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'ler) gibi kanserojenlerin inaktivasyonunda rol oynar. GST'ler ayrıca reaktif oksijen türlerinin ve endojen steroid hormon metabolitlerinin detoksifikasyonunda yer alır (21). GST'lerin biyokimyasal koruma mekanizmaları, hem oksidatif strese katkıda bulunan organik hidroperoksitlerin azaltılmasını hem de hücreden taşınmasını kolaylaştıran elektrofilik bileşiklerin glutasyon ile konjugasyonunu içerir. GST'ler ayrıca katekol östrojenlerin metabolik redoks döngüsü sürecinde üretilen serbest radikaller dahil olmak üzere hücreleri oksidatif hasardan koruyabilir (22).

Bu çalışmada kullanılan *Diplotaenia turcica* (siyabo) bitkisi *Apiaceae* familyasına ait olup Hakkari, Van, Bitlis yöresinde yetişen endemik türdür (23). *Diplotaenia turcica*, boyu 1,5-2 metreye kadar uzayan, kök yapısı odunsu, ağustos ayında beyaz çiçekler açan ve yöre halkı tarafından "siyabo" olarak adlandırılan bir bitkidir (24). Bitki bölge halkı tarafında bazı yemeklerde ve otlu peynir gibi pek çok gıda yapımında kullanılmaktadır. Aslında bunun temel nedeni yapısında bulunan bileşenler dolayısıyla geleneksel tedavi olarak kullanılmasıdır. Bu anlamda *Diplotaenia turcica* yılan gibi zehirli hayvan ısırıklarından korunmak dışında tansiyon, romatizma diyabet gibi hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır (25, 26).

Bu çalışmanın amacı *Diplotaenia turcica* (siyabo) bitkisinin gövde kısmındaki GR ve GST enzim aktiviteleri ile PKD düzeyini belirlemek ve literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırmaktır.

MATERYAL VE METOD

Bitki Materyali

Diplotaenia turcica (siyabo) bitkisinin toprak üstü kısımları Haziran ayında Hakkari Yüksekova mevkiinden toplanmıştır. Bitki tanımlaması Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryum Teknikleri Laboratuvarı'nda (Herbaryum no: Vanf 32858) teşhis edildi.

Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Bitki toplandıktan sonra kurutulup küçük parçalara ayrıldı. 2 gram bitki örneği 20ml metanol ile homojenize edildi. 24 saat çalkalamalı etüvde 4 °C'de bekletildi. Daha sonra 15 dakika 4000 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant + 4 °C'de koyu renkli şişe içerisinde muhafaza edildi (27).

PKD Tayin Yöntemi

Plazmada protein karbonil tayini için Levine (1994) ve Reznick'in (1994) yöntemi çalışıldı. 2,4-dihidrofönilhidrazin (DNPH)'in protein karbonillerle reaksiyona girerek protein hidrazon oluşturması prensibine

dayanan yöntemde 360 nm'de hazırlanan köre karşı absorpsanlar okundu (28, 29).

GR Tayin Yöntemi

GR aktivitesi, Goldberg ve Spooner'in (1983) yöntemine göre; yükseltgenmiş glutatyonun NADPH varlığındaki 340 nm'deki absorpsanın, 3 dakika süre ile azalması ölçüldü ($\epsilon = 6,2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Bir enzim ünitesi, 1 dakikadaki yükseltgenmiş glutatyon ($\mu\text{mol ml}^{-1}$) olarak hesaplandı (30).

GST Tayin Yöntemi

GST, indirgenmiş glutatyonun (GSH) 1-kloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) bağlanmasını katalizler. GST aktivitesi, belirli bir reaksiyon süresi için, tepkime sonrasındaki substrat konsantrasyonunun değişmesi olarak ifade edilir. GST aktive düzeyleri, 1-kloro 2,4 dinitrobenzen (CDNB)'in GSH ile konjugasyonu sırasında gerçekleşen absorpsan artışlarının 340 nm'de 1. ve 5. dakikada okunmasıyla belirlendi (31, 32).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda her parametre için 8 ölçüm yapıldı. Ölçümler T80+ UV-VIS Spectrometer cihazında yapıldı. Her ölçüm sonrası cihazın kalibrasyonu yapıldı. Ölçümler sonunda yapılan hesaplamalarla ortalama PKD düzeyi 14,31 nmol/ml, GR aktivitesi 0,806 U/ml, GST aktivitesi ise 2,94 U/ml bulunmuştur (Tablo 1.).

Tablo 1. *Diplotaenia turcica* bitkisinin MDA, GSH ve GST ortalaması

	PKD (nmol/ml)	GR (U/ml)	GST (U/ml)
<i>Diplotaenia turcica</i>	14.31 ± 1.13	0.806 ± 0.02	2.94 ± 0.04

Apiaceae familyasına ait olan Siyabo (*Diplotaenia turcica*) bitkisi Hakkari, Van, Bitlis yöresinde yetişen endemik bir bitki olması dolayısıyla hakkında çok fazla çalışma yapıldığı söylenemez. Bu çalışmada siyabo bitkisinde bulduğumuz oksidatif stres ve antioksidan aktivite değerlerini literatürde yer alan başka bitki örnekleri ile karşılaştırdık.

Seçkin (2021), *Diplotaenia turcica* bitkisinden yeşil sentez ile elde ettiği nano-bakır partiküllerin antimikrobiyal, antioksidan ve DNA hasarını önleme etkisini araştırdığı çalışmasında bitkinin güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir (33). Özdek ve arkadaşları *Diplotaenia turcica* bitkisinin

kök ekstraktlarını uyguladıkları diyabetic ratlar üzerine yaptıkları bir çalışmada, MDA seviyesinin düştüğü ve SOD, GSH-R, CAT ve GSH-Px aktiviteleri ile GSH seviyesinin arttığını tespit etmişler ve sonuçta bitkinin antioksidan özelliğinin olduğunu ileri sürmüşlerdir (24). Özdek yaptığı bir çalışmada *Diplotaenia turcica*'nın ekstresinin toplam fenolik içeriğinin (27,54 µg PEs/mg extract), flavonoid içeriğinden (7,31 µg QEs/mg extract) daha fazla olduğunu bildirmiştir (34). Yapılan farklı bir çalışmada kök kısımları ekstrakte edilen *Diplotaenia turcica* bitkisinin *Bacillus subtilis*'e, bitkinin gövde kısmından elde edilen ekstraktın ise *Escherichia coli*'ye karşı çok yüksek oranda inhibitör etkisinin olduğu bildirilmiştir (35).

Diplotaenia turcica bitkisinin PKD düzeyi, GR ve GST aktivitelerine dair literatürde bir çalışmaya rastlayamadığımız için bulduğumuz verileri başka bitkilerle de karşılaştırdık. Yılmaz yaptığı bir çalışmada sarkaca bitkisinin PKD' düzeyini yaprakta 3,3, çiçekte 4,5, soğanda 3,2 nmol/ ml olarak tespit etmiş, bu çalışmada ise 13,63 nmol/ml olarak tespit edildi (36).

Bitlis, Tatvan, Mutki ve Adilcevaz yörelerinden toplanan yılan otu bitkisi üzerine yapılan bir çalışmada bitkinin GST düzeyinin en yüksek Tatvan'da toplanan örneklerde olduğu (110,72 unit/gr), Bitlis,

Mutki ve Adilcevaz'da toplanan örneklerde ise sırasıyla 68,80 unit/gr, 10,71 unit/gr ve 15.12 unit/gr olduğu tespit edilmiştir (37). Bu çalışmada ise GST düzeyi 2,94 U/ml olarak bulundu. Bu bitkilere kıyasla düşük bir değerdir. Erez'in çalışmasında *Thymus kotschyanus* uygulanan *Pisum sativum* ve *Hordeum vulgare* bitkilerindeki MDA düzeylerini sırasıyla 169,948 nmol/g, 212,339 nmol/g; kontrol grubunda 59,4978 nmol/g, 107,422 nmol/g, GSH değerini 10,7748 nmol/g, 12,7925 nmol/g, kontrol grubunda 16,5262 nmol/g, 16,1490 nmol/g, GST değerini 0,648 EU/g, 0,51 EU/g, kontrol grubunda 0,297 EU/g, 0,658 EU/g, GR değerini ise 0,134 EU/g, 0,729 EU/g kontrol grubunda ise 0,176 EU/g, 0,434 EU/g olarak bulmuştur (38). Bu çalışmada GR değeri 0,806 U/ml, GST Değeri ise 2,94 U/ml bulunmuştur. Bu bitkilere kıyasla yüksek bir değerdir. Yapılan bir çalışmada mısır (*Zea Mays*) bitkisinin GST aktivitesini 0,04 U/ml, GSH aktivitesini 0,66 U/ml, GR aktivitesini 0,11 U/ml bulunmuştur. Bu çalışmada ise GST aktivitesi 2,94 U/ml, GR aktivitesi 0,806 U/ml olarak bulundu. Siyabo bitkisinde her iki enzim aktivitesi de mısır bitkisine göre yüksek bulunmuştur (39). *Morus nigra* (karadut) üzerine yapılan bir çalışmada GST aktivitesini 4,1 U/ml, GSH aktivitesini 0,3 U/ml, MDA düzeyini 4,86 U/ml bulmuştur. Siyabo bitkisinin GST aktivitesi daha düşüktür (2,94 EU/ml) (40).

SONUÇ

Canlı organizmalar, yaşam süreçleri sırasında iç ve dış kaynaklar sonucu oluşan serbest radikallerden, geliştirdikleri antioksidan savunmalar ile korunurlar. Canlılar için esas olan nokta antioksidan savunma ile serbest radikal oluşum hızı arasında bir denge olmasıdır. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa oksidatif stres meydana gelir ki bu durum da birçok patolojik problemin temel kaynağını oluşturur. Oksidatif stresin neden olduğu bu patolojik problemlerin başta kanser olmak

üzere yaşlanma ve pek çok hastalığa yol açtığı ya da bu problemleri hızlandırdığı yapılan birçok deneysel, klinik ve epidemiyolojik çalışmayla gösterilmiştir (41). Yıllarca halk arasında besinlerde ve sağlık problemlerinde sıklıkla kullanılan bitkiler, antioksidan etkileri dolayısıyla bilim camiasının da dikkatini çekmiş ve yaygın bir şekilde araştırılmaya ve çalışılmaya başlanmıştır. Dolayısıyla antioksidan içerik bakımından güçlü ve zengin olan maddelerin, bitkilerin ve besinlerin, reaktif

oksijen türlerinin canlı organizmada gerçekleştirdiği oksidatif zararı azalttığı ya da engellediği birçok çalışma ile ortaya koyulmuştur (42).

Sonuç olarak biz de çalışmamızda siyabo (*Diplotaenia turcica*) bitkisinin antioksidan aktivitesini ve oksidatif stres düzeyini araştırdık. Çalışmamızda siyabo (*Diplotaenia turcica*) bitkisinin PKO düzeyini (14,31nmol/ml), GR (0,806 U/ml) ve GST (2,94 U/ml) enzim aktivitelerini belirledik. Bu değerler bazı bitkilere göre yüksek bazı bitkilere göre düşük bulunmuştur. Sonuçta literatürde siyabo (*Diplotaenia turcica*) bitkisinin PKO, GR ve

GST değerlerinin doğrudan tayini yapılmamıştır. Bu değerleri literatüre kazandırmış olduk. Siyabo (*Diplotaenia turcica*) bitkisinin canlıdaki antioksidan etkisi üzerine hayvan deneyleri gibi daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Finansal kaynak: Bu makale ile ilgili herhangi bir finansal kaynaktan yararlanılmamıştır.

Çıkar çatışması: Bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKÇA

1. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* 4, 118–126. doi: 10.4103/0973–7847.70902.
2. van der Pol, A., van Gilst, W. H., Voors, A. A. & van der Meer, P. (2019). Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. *Eur J Heart Fail*, 21(4), 425–435. doi: 10.1002/ehf.1320. Epub 2018 Oct 19. PMID: 30338885; PMCID: PMC6607515.
3. Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M. & Lunec, J. (2003) Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 17(10), 1195–214. doi: 10.1096/fj.02-0752rev.
4. Evans, M. D., Dizdaroglu, M. & Cooke, M. S. (2004). Oxidative DNA damage and disease: Induction, repair and significance. *Mutat. Res.* 567:1–61. doi: 10.1016/j.mrrev.2003.11.001.
5. Mao, X., Gu, C., Chen, D., Yu, B. & He, J. (2017). Oksidatif stres kaynaklı hastalıklar ve çay polifenollerini. *Oncotarget*, 8, 81649-81661.
6. Matsufuji, H., Ochi, H. & Shibamoto, T. (2006). Formation and inhibition of genotoxic malonaldehyde from DNA oxidation controlled with EDTA. *Food Chem Toxicol*, 44, 236–241.
7. Chauhan, S. S., Ojha, S. & Mahmood, A. (2011). Modulation of lipid peroxidation and antioxidation defense systems in rat intestine by subchronic flutide and ethanol administration. *Alcohol*, 45, 663–72.
8. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 5(1), 9–19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.
9. Karabulut, H. & Gülay M.Ş. (2016). Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg.* 1(1), 65–76.
10. Levine, R. L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med.* 1, 790–6.
11. Dalle-Donne, I., Aldini, G., Carini, M., Colombo, R., Rossi, R. & Milzani, A. (2006). Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *J Cell Mol Med.* 10, 389–406.
12. Gieseg, S., Duggan, S. & Gebicki, J. M. (2000). Peroxidation of proteins before lipids in U937 cells exposed to peroxy radicals. *Biochem J.* 15:215–8.
13. Du, J. & Gebicki, J. M. (2004). Proteins are major initial cell targets of hydroxyl free radicals. *Int J Biochem Cell Biol*, 36:23, 34–43.
14. Shacter, E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev*, 32:307–26.
15. Pantke, U., Volk, T., Schmutzler, M., Kox, W. J., Sitte, N. & Grune, T. (1999). Oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery. *Free Radic Biol Med*, 27:1080–6
16. Kiran, T. R., Karaman, Ü., Colak, C., & Daldal, N. (2010). Malondialdehyde, glutathione and nitric oxide levels in patients with *Enterobius vermicularis* infection. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 44(1), 165–167.
17. Memişoğulları, R.. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi.* 3, 30–39.
18. Robbins, M. E., Cho, H. Y., Hansen, J. M., Luchsinger, J. R., Locy, M. L., Velten, M., Kleeberger, S. R., Rogers, L. K. & Tipple, T. E. (2021). Glutathione reductase deficiency alters lung development and hyperoxic responses in neonatal mice. *Redox Biol*, 38:101797. doi: 10.1016/j.redox.2020.101797. Epub 2020 Nov 13. PMID: 33254076; PMCID: PMC7708869.
19. Drozd-Afelt, J. M., Koim-Puchowska, B., Klosowski, G. & Kaminski, P. (2020). Polymorphism of glutathione S-transferase in the population of Polish patients with carcinoma of the prostate. *Environ Sci Pollut Res Int.* 27(16), 19375–19382. doi: 10.1007/s11356-020-08435-7.
20. Mo, Z., Gao, Y., Cao, Y., Gao, F. & Jian, L. (2009). An updating meta-analysis of the GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and prostate cancer: a HuGE review. *Prostat.* 69, 662–688. doi: 10.1002/pros.20907. [PubMed] [CrossRef] [Google Akademik]
21. Nock, N. L., Bock, C., Neslund-Dudas, C., Beebe-Dimmer, J., Rundle, A., Tang, D., Jankowski, M. & Rybicki, B. A. (2009). Polymorphisms in glutathione S-transferase genes increase risk of prostate cancer biochemical recurrence differentially by ethnicity and disease severity. *Cancer Causes Control.* 20, 1915–1926. doi: 10.1007/s10552-009-9385-0. [PMC ücretsiz makale] [PubMed] [CrossRef] [Google Akademik]
22. Ge, B., Song, Y., Zhang, Y., Liu, X., Wen, Y. & Guo, X. (2015). Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) null polymorphisms and the risk of hypertension: a meta-analysis. *PLoS One.* 5;10(3), e0118897. doi: 10.1371/journal.pone.0118897.
23. Özdek, U. (2017). *Diplotaenia turcica* Kök Ekstratının Diyabetik Rat Pankreası Lipit Peroksidasyonu, Antioksidanlar Ve İmmunohistokimyası Üzerine Etkisi (Yayımlanmamış Doktora Tezi). T.C. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
24. Özdek, U., Yıldırım, S. & Değer, Y. (2019). The effect of *Diplotaenia turcica* root extract in streptozotocininduced diabetic rats. *Turkish Journal of Biochemistry*, 45(2). <https://doi.org/10.1515/tjb-2018-0411>
25. Kaval, I., Behçet, L. & Cakilcioglu, U. (2014). Ethnobotanical study on medicinal plants in Geçitli and its surrounding (Hakkari-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 171-184. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.014>
26. Uce, İ., & Tunçtürk, M. (2014). Wild Plants which Naturally Grown and Widely Used in Hakkari Research. *Journal of Biology Sciences*, 7(2), 21-25. Retrieved from <http://bibad.gen.tr/index.php/bibad/article/view/244>
27. Murathan, Z. T. (2018). Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi ekolojik koşullarında yetişen bazı tıbbi bitkilerin biyokimyasal içeriği ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi.* 20(2), 51–60. DOI: 10.25092/baunfbed.468493.
28. Levine, R. L., Williams, J. A., Stadtman, E. R. & Shacter, E. (1994). Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 233:346–57. doi: 10.1016/s0076-6879(94)33040-9. PMID: 8015469.
29. Reznick, A. Z. & Packer, L. (1994). Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol.* 233, 357–363.
30. Goldberg, D. M. & Spooner, R. J. (1983). Methods of enzymatic analysis. *Bergmeyer HV*, 3, 258–265.
31. Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B., (1974). Glutathione S-transferases. *The Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139.
32. Habdous, M., Vincent-Viry, M., Visvikis, S. & Siest, G., (2002). Rapid spectrophotometric method for serum glutathione S-transferases activity. *Clinica Chimica Acta*, 326, 131–142.
33. Seçkin, H. (2021). Antimicrobial, antioxidant and DNA Damage prevention effect of nano-copper particles obtained from

diplotaenia turcica plant by green synthesis. Pol. J. Environ. Stud, 30(5), 4187–4194.

34. Özdek, U. (2020) The antioxidant and antialzheimer activities of the *Diplotaenia turcica* with phytochemical analysis. Int J Agric Environ Food Sci, 4(4), 394–399

35. Seçkin, H. & Meydan, İ. (2021). Investigation of antimicrobial effect of *diplotaenia turcica* plant growing in van province. Doğu Fen Bilimleri Dergisi / Journal of Natural & Applied Sciences of East, 4(1), 1–7.

36. Yılmaz, E. (2019). Sakarca (*Ornithogalum Umbellatum*) Bitkisinin Farklı Dokularına Ait Özütlere Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi). T.C. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Rize.

37. Akbalık, C., Kireççi, O. A., Fırat, M., Şahin, İ. H. & Çelikezen, F. Ç. (2021). Bitlis yöresinde yetişen *Plantago lanceolata* (yılan otu) bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması BEÜ Fen Bilimleri Dergisi, 10(2), 287–295

38. Erez, M.E. (2009). *Lepidium draba* L., *Acroptilon repens* (L.) DC., *Thymus kotchyanus* Boiss&Hohen. var. *kotchyanus*, *Inula peacockiana* (Aitch.&Hemsl.) Koravin, *Salvia kronenburgei* Rech.

f. ve *Phlomis armeniaca* Wild. Bitkilerinin Allelopatik Potansiyellerinin Araştırılması (Yayımlanmamış Doktora Tezi) T.C. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Van.

39. Kurt, A. G. (2007) Callisto Herbisitinin *Zea mays* L. (Mısır)'ın Martha F1 Kültür Formunda Total Glutasyon, Glutasyon Redüktaz, Glutasyon-S-Transferaz Ve Pigment İçeriği Üzerine Etkileri (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi). T.C. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Malatya

40. Özelçi, D. (2020) In Vitro Ortamda Kuraklık Stresine Maruz Bırakılan *Morus nigra* L. (Karadut)'da Melatonin Etkisinin Biyokimyasal Ve Fizyolojik Cevaplarla Değerlendirilmesi (Yayımlanmamış Doktora Tezi). T.C. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.

41. Mau, J. L., Chao, G. R. & Wu K.T. (2001). Antioxidant Properties of Methanolic Extracts from Several Mushrooms. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49, 5461–5467. [32]

42. Gülçin, İ. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*pipernigrum*) seeds. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 56, 491–499.